

博士論文審査結果の要旨

学位申請者 横 溝 千 尋

主論文 1 編

High expression of p300 in HCC predicts shortened overall survival in association with enhanced epithelial mesenchymal transition of HCC cells.
Cancer Letters 310;140-147,2011

審 査 結 果 の 要 旨

肝細胞癌は上皮間葉移行（以下：Epithelial-Mesenchymal Transition；EMT）を契機に、より運動性の高い表現型を獲得し、被膜浸潤や脈管浸潤から肝内及び遠隔転移を来し再発することで予後不良となる。よって、肝細胞癌の EMT 制御は治療の重要なターゲットであると考えられる。申請者は、がん抑制遺伝子 p53 をアセチル化しアポトーシスを誘導することでがん抑制に働くと考えられてきた p300 が、様々な転写因子の補助因子となり進行大腸癌や肝細胞癌で高発現していると近年報告されたことに注目し、肝細胞癌における p300 の発現と予後因子の関連をヒト臨床検体及び肝癌細胞株を用いて EMT 関連遺伝子を中心に解析を行った。

申請者は、ヒト肝癌の切除標本 45 症例において p300 の免疫染色を行い p300 が癌部で高発現し、その発現が TNM stage や微小血管浸潤、肝内転移と正の相関を示し、予後不良因子であることを統計学的に証明した。次に、p300 の発現が病理組織学的に脈管浸潤や肝内転移と有意な相関があることに着目し、肝癌細胞株を用いて p300 と EMT 関連遺伝子発現の検討を行った。

予想された通り、高い浸潤能を持つ低分化型肝癌細胞株である HLE は、比較的高分化型の肝癌細胞株である HepG2 や Huh7 と比較して p300 が高発現しており、以前の報告と同様に E-cadherin の発現が非常に低下していた。Small interfering RNA による p300 のノックダウン実験では、Huh7 と HLE において E-cadherin の発現が回復し、細胞浸潤・遊走能の低下がみられ、EMT が抑制されたと考えられた。また、最終的にアポトーシスに有意な差はみられなかったものの、p300 のノックダウンにより Huh7 と HLE では β カテニンの核内移行とサイクリン D1 の発現が低下することで細胞増殖能が抑制されていた。p300 と E-cadherin の発現における逆相関のメカニズムを調べるために、E-cadherin の転写抑制因子の発現を検討したところ p300 のノックダウンにより Snail や Twist, HIF-1 の発現低下がみられた。さらに、HLE では p300 のノックダウンにより Twist のプロモーター活性の低下が確認された。以上から、Huh7 や HLE では p300 は E-cadherin を抑制する上流遺伝子群の発現上昇に寄与し E-cadherin を低下させることで EMT を促進していると考えられたが、HepG2 ではその作用は明らかではなかった。HepG2 は p53 が野生型であるが、Huh7 や HLE では変異しており p300 の p53 安定化作用によるアポトーシスの誘導が障害されていることで p300 の EMT 促進作用が前面に出たのではないかと推察した。

以上が本論文の要旨であるが、肝細胞癌における p300 の発現が予後不良因子であり EMT と強く関連していることを臨床検体および肝癌細胞株で明らかにした点で、医学上価値ある研究と認める。

平成 25 年 6 月 20 日

審査委員 教授 奥 田 司 ㊞

審査委員 教授 八木田 和 弘 ㊞

審査委員 教授 加 藤 則 人 ㊞